

審査の結果の要旨

氏名 石川理恵

本研究は、本邦における癌死の第 1 位である肺癌の遺伝子異常を同定し、治療戦略を考えるため、外科的切除により摘出された肺癌検体より得られた転写産物から遺伝子融合を検索し、下記の結果を得ている。

1. キメラ転写産物の検索

血液腫瘍と融合に関連する論文を検索して抽出した転写因子 28 遺伝子と、正常肺で発現亢進のみられないチロシンキナーゼ 16 遺伝子を候補遺伝子として、肺癌臨床検体 27 症例を対象に、キメラ転写産物の検索を行った。転写因子 RUNX1 の 3'RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) により、RUNX1 のエクソン 1, 2 と GLRX5 のエクソン 2 が融合しているキメラ転写産物 (RUNX1-GLRX5 と命名) を発見した。肺癌臨床検体 80 症例のうち 40 症例で、RUNX1-GLRX5 融合陽性であった。ステージ IA 症例 (融合陽性症例 14 例, 融合陰性症例 14 例) の生存分析では、融合陽性症例が有意に予後良好という結果が得られた。RUNX1-GLRX5 は、癌組織に対し抑制的に働いていることが示唆された。

2. RUNX1 および GLRX5 の DNA 配列の計算生物学的解析

NCBI データベースによれば RUNX1 のイントロン 2 は 155,878 塩基, GLRX5 のイントロン 1 は 8,562 塩基で、それぞれ両端に典型的なスプライシング配列である GT-AG 配列を持っていた。ヒトのイントロンの長さは、約 70%が 3,000 塩基以下であり、RUNX1 のイントロン 2 は、イントロンとして非常に長いといえる。RUNX1 および GLRX5 の DNA 配列を解析対象として、Blastn を用いて類似配列を検索した。GLRX5 上に 1 ヶ所、RUNX1 上に複数ヶ所存在する Alu 配列により、ふたつの DNA は複数の位置で類似した配列をもつことがわかった。

3. RUNX1-GLRX5 と鉄代謝関連遺伝子発現

RUNX1 は造血系細胞に発現しており、血球の分化に関わる転写因子である。また、GLRX5 はミトコンドリアにおける鉄硫黄クラスターの生合成に関わるタンパクである。そこで、RUNX1-GLRX5 が、癌細胞における鉄代謝に何らかの影響を与えている可能性について検討を加えた。

鉄代謝関連遺伝子であるフェリチン (FTL), トランスフェリン受容体 (TFR1), 二価金属輸送体 (DMT1), フェロポルチン (FPN1) の発現量を融合陽性症例 40 例, 融合陰性症例 40 例で比べると、TFR1, DMT1 の発現量は融合陽性症例で有意に低かった。さらにこれを病期ごとにみると、融合陽性症例では、病期が進行すると、TFR1, DMT1 の発現量は低下しており、融合陰性症例と逆のパターンを呈していた。

4. RUNX1-GLRX5 強制発現系の解析

RUNX1-GLRX5 と正常型 GLRX5 を組み込んだレンチウイルスベクター、およびブランクのレンチウイルスベクターを、RUNX1-GLRX5 を発現していない肺癌細胞株に導入したが、いずれの鉄代謝関連遺伝子にも有意な差はみられなかった。細胞の比増殖速度にも、有意な差はみられなかった。遺伝子融合を主因としたものではないことが示唆された。

TFR1/DMT1 発現量増加と RUNX1-GLRX5 融合とが合成致死性様の関係にあることが示唆された。つまり、RUNX1-GLRX5 をもつ肺癌症例では、TFR1/DMT1 の発現量が減少すると悪性度が上がる可能性がある。細胞内鉄量が下らない管理が必要と考えられる。癌細胞では、とくに悪性度の高いもので TFR1 の発現量が増加することが多いとされている。このような症例に対しては、GLRX5 の阻害薬、あるいは、鉄硫黄クラスター合成阻害薬の投与が有効である可能性がある。

以上、本論文は原発性肺癌の臨床検体から、癌組織に対して抑制的に働いていると考えられる未知のキメラ転写産物 RUNX1-GLRX5 を同定した。鉄代謝関連遺伝子の発現量を解析したところ、融合陽性・融合陰性症例で発現パターンに差がみられた。この差は、癌治療において鉄代謝を標的とするものの有効性を示唆するものであった。本研究はこれまであまり注目を浴びることはなかったパッセンジャー変異も、合成致死性の関係にある遺伝子を検索することにより、オーダーメイド治療の標的になりうる可能性を示しており、学位の授与に値するものと考えられる。